PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number:

10-323646

(43)Date of publication of application: 08.12.1998

(51)Int.CI.

B09B 3/00 A62D 3/00 B09C 1/10 C02F 3/34 C12N 1/14 //(C12N 1/14 C12R 1:645)

(21)Application number: 09-133848

(71)Applicant: FUKUOKA PREF GOV

(22)Date of filing:

23.05.1997

(72)Inventor: TAKADA SATOSHI

MATSUEDA TAKAHIKO

(54) DECOMPOSITION PROCESS FOR CHLORINE COMPOUND BY MICROBE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a process for decomposing a plurality of chemical substances simultaneously by adding microbes of p.chrysosporium having lignin into a liquid containing simultaneously polychlorinated-dibenzo-paradioxins and polychlorinated biphenyl (PCBs).

SOLUTION: Microbes of p.chrysosporium provided with lignin resolution are added into a liquid containing a plurality of chemical substances selected out of a group formed of polychlorinated-dibenzo-paradioxins(PCDDs) substituted particularly by chlorine of 4 or more and/or polychlorinateddibenzofuran(PDCFs) and polychlorinated biphenyl(PCBs) to decompose a plurality of chemical substances.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C): 1998,2000 Japanese Patent Office

(12)公開特許公報 (A)

(11)【公開番号】特開平10-323646 (43)【公開日】平成10年(1998)12月8日

(51) 【国際特許分類第6版】 -B09B 3/00 A62D 3/00 ZAB 1/10 B09C ZAB CO2F 3/34C12N 1/14//(C12N 1/14 C12R 1:645) [FI] B09B 3/00 A62D 3/00 ZAB CO2F 3/34Z 1/14 C12N E B09B 3/00 ZAB E

【審査請求】未請求【請求項の数】3【出願形態】〇L【全頁数】8

- (21) 【出願番号】特願平9-133848
- (22) 【出願日】平成9年(1997)5月23日

(71)【出願人】

【識別番号】591065549 【氏名又は名称】福岡県

【住所又は居所】福岡県福岡市博多区東公園7番7号

(72) 【発明者】

【氏名】高田 智

【住所又は居所】福岡県太宰府市向佐野迎田39 福岡県保健環境研究所内

(72) 【発明者】

【氏名】松枝 隆彦

【住所又は居所】福岡県太宰府市向佐野迎田39 福岡県保健環境研究所内 (74)【代理人】

【弁理士】

【氏名又は名称】田中 宏 (外1名)

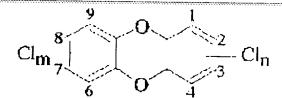
文献 No. R-/

(54) 【発明の名称】微生物による塩素系化合物の分解方法

(57)【要約】

【目的】 リグニン分解能をもつ微生物、P. chrysosporium を、 ダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニール (PCBs) を同時 に含む液に加えて前記複数の化学物質を同時に分解する方法の提 供。

【構成】 リグニン分解能をもつ微生物、P. chrysosporium をダイオキシン類、特に4を越える塩素で置換されたポリ塩素化ジベンゾパラジオキシン(PCDDs)及び/又はポリ塩素化ジベンブフラン(PCDFs)およびポリ塩素化ビフェニール(PCB s)からなる群から選択される複数の化学物質を含む液に加えて 前記複数の化学物質を分解する方法。



ボリ塩素化ジベンゾパラジオキシン (PCDDs)

【特許請求の範囲】

m + n = 1 - 8

【請求項1】 微生物としてリグニン分解能を有する微生物を用 エニール(PCBs)を同時に含む被処理系に加えて、これらの化合物を前記微生物により同時に分解することを特徴とする微生物による塩素系化合物の分解方法。

【請求項3】 被処理系が都市焼却場の焼却灰からのものであることを特徴とする請求項1または2に記載の分 解方法。

【発明の詳細な説明】

0001

【発明の属する技術分野】本発明は、焼却灰、産業廃棄物、 土壤、 工業排水、 廃棄物埋立地浸出水などに含まれ るダイオキシン類やPCBs類をリグニン分解能をもつ微生物を用いて分解する方法に関する。

[0002]

【従来技術】

【0003】ダイオキシン類は奇形、ガン、免疫不全、内分泌障害などを引き起こすといわれ、化学物質の中

られている。

(04),f 矩 blooky the table that broaden the broaden and a data are a great and broad tweestown 2000 4400 50 501

られている。
【0004】したがって、環境保護などの点からも、これらの化合物を分解する方法を確立することが重要であった。従来、前記のような毒性が高く、難分解性の有機塩素系化合物であるダイオキシン類やPCBsの分解処理方法として、初期には、燃焼法、光分解法、アルカリ処理、オゾン分解、超臨界処理などの物理化学的処理法が実施又は検討されていた。最近では細菌などの微生物を用いてダイオキシン類の分解が試みられてきている。しかしこれら微生物を用いる方法では、処理の対象としている有機塩素系化合物は、四塩化体以下のPCDDs、およびPCDFsの三塩化体のみである。即ち、リグニン分解能を有する微生物の一種であるPhanerochaete chrysosporium(以下、P. chrysosporiumと略す)を用いて、2、3、7、8・四塩素化ジベングパラジオキシン(Bumpus等、Science, 228 1434 (1985))および2、7・二塩素化ジベングパラジオキシン(Valli等、J. Bacteriol. 174 2131 (1992))を単独に含む被処理系の分解の報告がある。ポリ塩素化ビフェニール類(PCBs)である、アクロール1242、1254、1262の三種類(商品名、モンサント社製)の分解処理には、P. chrysosporiumを用いることが報告されている(Yadav等、Appl. Environ. Microbiol., 61 2560 (1995))。しかしながら、ダイオキシン化合物およびPCBsが同時に存在する混合物を単一の微生物を用いて分解することについての報告はない。
【0005】

【発明が解決しようとする課題】ところで、前記のような難分解性の有機塩素系化合物であるダイオキシン類やポリ塩素化ビフェニール類は、混合物の形で発生するのが一般であるから、これらの混合物系を同時に分解する微生物を見い出ことが、これらの分解処理前の被処理物の前処理が省略乃至簡易化できることが予想されるか ら、実用的で経済的な微生物による前記難分解性化合物の分解処理を確立する上で重要である。 【0006】

【0006】 【課題を解決するための手段】そこで、本発明者らは、前記特性をもつ微生物を見い出ことに努力した結果、リグニン分解性菌の内でも特定の菌に前記特性があることを発見し、本発明を完成するに至ったものである。【0007】即ち、本発明者らは、リグニン分解性微生物の中でもP. chrysosporiumを、フライアッシュ(焼却灰)から抽出したダイオキシン類およびPCBsを同時に含む抽出液に添加することにより、これらを同時に分解できることを発見した。四より多い塩素置換ダイオキシン化合物およびPCBsは下記Aの表のような種種のものの混合物である。 表Aダイオキシン類及びPCBsの異性体の数 PCDDs PCDFs PCBs四塩素化体 223842 五塩素化体 142846 六塩素化体 101642 七塩素化体 24 八塩素化体 11合計 4987

【発明の実施の態様】本発明は、リグニン分解能をもつ微生物としてP. chrysosporiumを、ダイオキシン類およびポリ塩素化ビフェニール(PCBs)を同時に含む液に加えて前記化学物質を分解する方法。 【0009】本発明を実施するには、微生物としリグニン分解能を有する微生物を使用するものであるが、リグニン分解能を有する微生物として知られている木材腐朽菌も使用可能である。これら木材腐朽菌としては、次のような各属に属する微生物が例示される。コリオラス属(Coriolus versicolor IFO 9791等)、ファネロケーテ属(Phanerochaete sordida YK-624 ATCC 90872、Phanerochaete chrysosporiumIFO 31249等)、グェダリー属(Daedalea dickinsii IFO 31163等)、ポリポラス属(Polyporus adusata IFO 5307等)、レンチテス属(Lenzites Betulisa IFO 8715等)、ガノデルマ属(Ganoderma lucidum IFO 31863等)、プリューロタス属(Pleurotus osteatus IFO 30776等)、イルペックス属(Irpex lacteus ATCC 11245等)、レンチヌス属(Lentinus edodes IFO 31866等)、クリニペリス属(Crinipellis stipitaria IFO 30259等)等。 [0010]

【9010】 フライアッシュ(焼却灰)からダイオキシン類及びPCBsの抽出方法焼却場の焼却灰500グラムを2規定-塩酸で洗浄後、ブフナーロートを用いて濾過、水洗後、風乾した。ソックスレー抽出器を用いてトルエンで24時間抽出、抽出液を減圧下留去後、アセトンに転溶し、正確に5ミリリットルとした。生分解の実験にはその10マイクロリットルを用いた。該生分解用の10マイクロリットル中のPCDDs、PCDFsおよびPCBsの組成含有量は、PCDDsの含有量(3回分析)は、総四塩素化体1.36±0.08ng、総五塩素化体2.22±0.16ng、総六塩素化体2.74±0.13、総七塩素化体1.74±0.09ng、総八塩素化体0.74±0.03ng、PCDFsの含有量は、総四塩素化体1.36±0.21ng、総一五塩素化体1.69±0.09ng、総七塩素化体1.86±0.14ng、総八塩素化1.04±0.06ng をしてPCBsの含有量は、総四塩素化体0.34±0.03ng、総五塩素化体0.89+0.02 六塩素化体 O. 89 ± O. 02

た塩素化体 0.89±0.02
【0011】リグニン分解性微生物による分解法予め、ポテトデキストロース寒天培地でリグニン分解性微生物として、P. chrysosporium IF 031249を用い、これをシャーレで培養後、フラスコに該リグニン分解性微生物が生育可能な低窒素液体培地に植菌し、数日間前培養した。グルコース溶液を 0.5ミリリットル加え、酸素パージし、フライアッシュ抽出液を 10マイクロリットル加え、密栓後、24日間、30℃で培養した。培養期間中、3日毎に、グルコース溶液を加え、また 6日毎に新鮮菌を 2 mg 加えた。【0012】培養終了後、ヘキサン5ミリリットルを加え、内部標準物質として 13C - ダイオキシン類及び 13C - PCBsを加え、濃硫酸で菌を溶解後、ヘキサン15ミリリットルを加え、未分解のダイオキシン類及び 19 PC Bsを加え、機硫酸で菌を溶解後、ヘキサン15ミリリットルを加え、未分解のダイオキシン類及び PC Bsを抽出した。更に、ヘキサン20ミリリットルを加え再度抽出した。生分解に使用したフラスコはアセトン及びヘキサンを加え、超音波抽出した。全てのヘキサン抽出液を蒸留水 20ミリリットルで洗浄した後、ヘキサンを減圧下で留去し、数ミリリットルにした後、そのヘキサン溶液を活性化したシリカゲル(130℃で4時間以上)でクリーンアップし(ヘキサン10ミリリットルで溶出)、溶媒を留去し、分解処理をした液中に未分解状態で残留しているダイオキシン類および PC Bsを活出を行って得られた試料)を用いた。生分解における対照として減菌したリグニン分解性微生物を用いた2対照試料を用いた。内部標準物質の13C - ダイオキシン類にはポリ塩素化ジベンゾパラジオキシンおよびポリ塩素化ジベンブフランの両方とも2、3、7、8 - 四塩素化、1、2、3、7、8 - 五塩素化、1、2、3、4、6、7、8 - 七塩素化及び八塩素化の13 C12 を用いた。なお 1,2,3,7,8-五塩素化、1,2,3,4,7,8-六塩素化、1,2,3,4,6,7,8-七塩素化及び八塩素化の13C12を用いた。なお

添加量は各々500pgであった。13C-PCBsとは3.3',4.4'-四塩素化、3.3',4.4',5-五塩素化及び3,3',4,4',5,5'-六塩素化 13C12を用いた。内部標準物質の添加量は100pgであった。前記試料中の未分解のダイオキシン類及びPCBsを定量には、シングルイオンモニタリングモードを用い、高分解能ガスクロマ トグラフ質量分析計を用いた。

「クワノ貝室が作訂を用いた。 【0013】ガスクロの条件は、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計にはガスクロマトグラムにはHP5890シリーズIIを取り付けたフィニガンマット95を用いた。ガスクロカラムとして、スペルコ社製SP-2331ヒューズドシリカキャピラリーカラム(長さ60メートル、内径0.32ミリメートル、膜圧0.2マイクロメートル)を用いた。質量分析の条件は加速電圧:5KV、分解能:7500、イオン化電圧:70eV、イオン化電流80マイクロアンペア、イオンマルチプライアー:2、3KV、イオン源温度:260℃であった。カラム温度は130℃に1分間保持し、1分3℃の割合で上昇し、240℃まで上げ、15分間保持した後、<math>260℃まで1分間20℃の割合で上昇し、2400℃まで上げ、15分間保持した後、<math>2600℃まで1分間200℃ 割合で上昇し、30分間保持した。ダイオキシン類の定量は Ballschmitter (J.High Chromatogr15 260 (1992

割合で上昇し、30分間保持した。ダイオキシン類の定量は Ballschmitter (J. High Chromatogr 15 260 (1992)) 及びRyan等 (J. Chromatogr 546 131 (1991)) の方法を参考にして定量した。
【0014】該方法の概要は、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析によってダイオキシン類及びPCBsとして同定された各モニターイオンのガスクロマトグラフのピークの面積から計算した。また、分解率の計算は滅菌して24日間行った2つの対照群の平均値と生分解を行った3試料の平均値とを比較して求めた。 試料中の各成分の含量 (ng) =試料中の各成分のガスクロマトグラフの面積値÷各々の対応する塩素化体の内部標準物質(13C12化合物)のガスクロマトグラフの面積値×内部標準物質の添加量÷ファクター ここでファクターとは高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計の応答比である。すなわち、ダイオキシン類およびPCBsの内部標準物質(13C12化合物)として加えたものと同じ化学構造の合成信(native)を等量混ぜた溶液を高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計に注入して求めた。 ファクター=標準品の面積値:内部標準面積値(13C)このようにして各資料の含量を求め、次式により各成分の分解率を求めた。 分解率(%)は減菌した2つの対照との比較で計算した。また、PCBsについては四、五及び六塩素化体として確認されたガスクロマトグラフ上のピークについて、分解率(%)の計算をダイオキシン類と同様にして行った。フラグメントイオンは特有のパターンを示す。そのことを利用し、分子イオン及び分子イオン+2をモニタリングし、PCBsとしての確認を行った。即ち、四塩素化物の場合、289.922と291.919、五塩素化物の場合、323.883と325.881及び六塩素化物の場

を示す。そのことを利用し、分子イオン及び分子イオン+2をモニタリングし、PCBsとしての確認を行った。即ち、四塩素化物の場合、289.922と291.919、五塩素化物の場合、323.883と325.881及び六塩素化物の場合、357.844と359.842をモニタリングした。例として四塩素化物として確認したガスクロマトグラムを図-1に示した。それぞれ、PCBsとして確認された物質について定量した。
【0015】リグニン分解能をもつ微生物、P. chrysosporium IFO31249によるダイオキシン類及びPCBsの分解結果を示す。これは、ダイオキシン類およびPCBs混合物を含む液に、リグニン分解能をもつ微生物P. chrysosporium IFO31249を添加して、混合物中における各化合物に対する前記微生物が高い分解率を示すものである。四塩素化体以上のPCDDs及びPCDFsにはそれぞれ49個及び87個、合計136個の化合物が存在し、シングルイオンモニタリングモードによる高分解能ガスクロマトグラフ質量分析に用いたSP-2331ガスクロカラムでは136個の化合物を全て単一のピークとして分離はできない。例えばPCDDsの六塩化物及びPCDFs六塩化物にはそれぞれ10個及び16個の異性体が存在する。これらの塩化物の、微生物P. chrysosporium J

ロカラムでは136 個の化合物を全て単一のピークとして分離はできない。例えばPCDDsの六塩化物及びPCDFs六塩化物にはそれぞれ10個及び16個の異性体が存在する。これらの塩化物の、微生物P. chrysosporium IFO31249による、分解結果を表-1~表 6に示している。【0016】表-1の六塩素化ジベンゾパラジオキシンの場合ピーク1及び2にはそれぞれ3個、2個の異性体が含まれ、残りの5つの異性体は単一のピークとしてピーク3から7に分離されている(図-2参照)。単一のピークにおける分解率は全て分解され、約42%から74%であり、標準偏差も小さい。これらのことから、ピーク1及び2に含まれる六塩化物の特定の異性体が分解されなかったことは考えにくい。したがって、六塩素化ジベンゾパラオキシンの全ての10個の異性体が分解されなかったことは考えにくい。したがって、六塩素化ジベンゾパラオキシンの全ての10個の異性体が分解されたと考える。【0017】表-2に示した六塩素化ジベングアカキシンの全ての10個の異性体が分解されたことから、リグニン分解能をもつ微生物はダイオキシン類の全ての化合物を分解することができるものということができる。微生物P. chrysosoporium IFO31249による、ダイオキシン類の全体の結果を塩素数別に表-3及び-4に示した。ポリ塩素化ジベンソパラジオキシンでは約45%から55%、ポリ塩素化ジベンゾフランでは約41%から59%分解されている。このように短期間(24日間)でダイオキシン類が分解されるのは細菌などの他の微生物にはみられない結果である。【0018】P. chrysosoporium IFO31249によるPCBsの塩化物の分解結果を表-5及び6に示す。PC

それぞれ平均6日間の培養で39%及び46%分解された。以上のようにリグニン分解能をもつ微生物のP. chrysosporium IFO31249はダイオキシン類やPCBsを全て分解することができ、有用な微生物であるこ とが理解される。

【0019】また、参考のために Phanerochaete sordida YK-624 によって30日間の培養でポリ塩素化ジベンソパラジオキシンでは四塩化物:49%、五塩化物:51%、六塩化物:64%、七塩化物:67%、八塩化物:61%、ポリ塩素化ジベンソフランでは四塩化物:51%、五塩化物:55%、六塩化物:62%、七塩化物:68%、八塩化物:74%分解された(1997年3月28日 日本薬学会発行の「日本薬学会第117 年会講演要旨集3」参照。)。

0020】ダイオキシン類及びPCBsの構造式

[0021]

【化1】

9 0 1

$$Cl_{\mathbf{m}} = 0$$
 $Cl_{\mathbf{m}} = 0$
 $Cl_{\mathbf{m}} =$

ポリ塩素化ジベンソパラジオキシン (PCDD₈)

$$m + n = 1 - 8$$

【化2】

$$m + n = 1 - 8$$

【化3】

$$m + n = 1 - 10$$

【0022】 【表1】

P. chrysespericm IFO31249による 六塩素化ジペンジパラジオキシンの分解結果

r	ク 塩素置	生分解に	分解率(%)	優準偏差
乔	号 模位置	供した量(ng	.)	
:	1, 2, 3, 4, 6, 8	1.69	47.65	6.90
	1, 2, 4, 6, 7, 9			
	1,2,4,6,8,9			
2	1,2,3,6,7,9	0.87	50.51	2.78
	1, 2, 3, 6, 8, 9			
3	1, 2, 3, 4, 7, 8	0.12	63.09	5.41
4	1, 2, 3, 6, 7, 8	0.18	74.64	1.09
5	1, 2, 3, 4, 6, 9	0.01	71.14	7.50
6	1, 2, 3, 7, 8, 9	0.24	43.18	6.98
7	1, 2, 3, 4, 6, 7	0.28	42.09	2.26

ビーク番号はSP-2331によって分離された ガスクロマトグラム上のピーク番号 分解率 (%) (n=3)は滅菌対照群(n=2)から補正した値。

【0023】 【表2】

P.cbrysesporium IFO31249による 六塩素化ジベンソフランの分解結果の一例

۲,۰	- ク 塩素圏	生分解に	分解率(%)	標準偏差
春) 模位置	供した盘(ng)		
1	1,2,3,4,6,8	0.24	66.86	1.88
2	1.3,4,6,7,8	0.51	53.58	5.43
	1,3,4,6,7,9			
3	1, 2, 4, 6, 7, 8	0.37	38.37	5.33
4	1,2,4,6,7,9	0.22	53.71	3.85
5	1,2,3,4,7,8	0.17	57.88	6.70
	1,2,3,4,7,9			
б	1.2,3,5,7.8	0.22	53.43	0.37
1	1,2,4,6,8,9	0.08	71.84	6.51
8	1, 2, 3, 4, 6, 7	0.24	48.90	3.09
9	1, 2, 3, 6, 7, 9	0.07	70.52	4.10
10	1, 2, 3, 4, 6, 9	0.17	17.58	4.77
	1, 2, 3, 6, 8, 9			
11	1, 2, 3, 7, 8, 9			4.78
12	1, 2, 3, 4, 8, 9			8.45
13		0.73		3.30
	ク番号はSP 2331			
	クロマトグラム」			
分解	率(%)は滅菌を	対照群 (n=2) かり	ら補正した値	ĺ,

【0024】 【表3】

P.ch:ysosporium IFO31249による

* リジペンパパラジ おおりの分解結果の一例

	異性体	生分解に供	分解率(%)	標準偏差
	の数	した量(ng)		
四塩素化物	22	1.99	45.19	1.19
五塩素化物	14	2.49	50.11	0.14
六塩素化物	10	3.39	\$5.96	5.51
七塩素化物	2	1.02	52.81	5.54
八塩素化物	1	0.61	44.17	7.50

【0025】 【表4】

P.ch: ysosporium I F O 31249による ポリ塩素化ジベンソフランの分解結

	異性体	生分解に供	分解率(%)	標準偏差
	の数	した量(ng)		
四塩素化物	38	1.90	50.51	2.73
五塩素化物	28	2.99	41.54	2.61
六塩素化物	16	3.19	59.36	2.48
七塩素化物	4	1.37	54.07	2.88
八塩素化物	I	0.54	₹2.19	5.50

【0026】 【表5】

P.chrysosporium IFO31249による 四塩素化ビフェニールの分解結果の一例

ピーク	保持時間	生分解に供	分解率(%)	標準偏差
番号	(分:秒)	した量(jːg)		
I	16:22	9.6	50.70	0.66
2	16:50	7.8	88.86	0.10
3	17:21	30.3	23.57	10.35
4	17:31	40.2	16.76	4.09
5	17:50	9.5	50.88	1.08
ß	18:26	8.7	85.39	0.41
7	19:05	17.6	38.01	15.18
8	19:20	32.2	62.81	8.35
9	20:02	14.2	38.03	1.60
10	20:51	13.6	39.84	9.54
11	21:32	16.2	76.07	5.95
12	23:10	55.6	27.44	0.43

ピーク番号はSP-2331によって分離された ガスクロマトグラム上のピーク番号

【0027】 【表6】

P. chrysosoporium IF O31249による

ポリ塩素化ビフェニールの分解結果の一例

生分解に供	分解率(%)	標準偏差
した量(ng)		

四塩素化物	0.26	57.23	16.03
五塩素化物	0.34	53.61	1.56
六塩素化物	0.89	43.79	3.33

【0028】
【発明の効果】大気や土壌環境を広範囲に汚染して社会問題となっているダイオキシン類のポリ塩素化ジベンソパラジオキシン(PCDDs)及びポリ塩素化ジベンゾフラン(PCDFS)、特にこれらの骨格の2,3,7,8位が塩素で置換された化合物は毒性が高く、環境汚染の問題となっており、また、PCBsには209の化合物が存在し、それらの中で、オルト位に塩素をもっていない化合化合物、コプラナーPCBsもダイオキシン類と同様に毒性が高く社会問題となっているので、これらの化合物を同一の微生物によって分解する方法の発明は、環境改善に大きな効果をもたらす。

【図面の簡単な説明】

【図1】 PCBsについてのガスクロマトグラフ 【図2】 六塩素化ジベンゾパラジオキシンについてのガスクロマトグラフ

